©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Über die Permeabilitätsbestimmung nach der Deplasmolysezeit

Von Lothar Hofmeister, Wien

(Vorgelegt in der Sitzung am 24. Juni 1948)

I. Einleitung.[1]

Im letzten Jahrzehnt hat die Permeabilitätsforschung ihr Interesse, das durch lange Zeit der Erstellung ausführlicher Permeabilitätsreihen einzelner Pflanzen galt, mehr und mehr dem Studium von Permeabilitätsänderungen zugewendet, die unter verschiedenen natürlichen und künstlichen Einflüssen eintreten. Zur Bestimmung der seinerzeit als für das gegebene Plasma konstant angenommenen „spezifischen Permeabilitätsreihen" hatte man sich um größte Genauigkeit der Methoden bemüht. Den Wiener Zellphysiologen ist verständlicherweise die plasmometrische Methode Höflers am besten vertraut; es braucht nicht erwähnt zu werden, daß sie bei richtiger Handhabung unübertrefflich genaue Werte gibt und daß ihre Präzision an die bekannte Streuung der Permeabilität des lebenden Protoplasmas oft geradezu verschwendet erscheint. Die Bestimmung und erst recht die Berechnung der Ergebnisse verlangt, wenn sie richtig durchgeführt wird, viel Zeit und Mühe. Im Gegensatz dazu genügt für viele Bedürfnisse die ganz simple und bisher verachtete Bestimmung der Permeabilität nach der Deplasmolysezeit vollständig, wenn sie quantitativ ausgewertet wird; damit lassen sich mit einem Minimum an Zeit und Arbeit Werte berechnen, welche vielfach der Konstante P′ der klassischen Methode sehr nahe liegen. Es ist klar, daß auf diese Weise ein Durchschnittswert für den gesamten Versuchsablauf er-

[1] Die vorliegende Studie wurde im Frühjahr und Sommer 1946 am Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien im wesentlichen fertiggestellt, die Niederschrift im Dezember 1947 am Botanischen Institut beendet.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

mittelt wird, der sich wohl auch als Mittel aus verschiedenen Intervallen des plasmometrischen Versuches berechnen ließe.

Ein derartiges vereinfachtes Verfahren wird beispielsweise am Platze sein, wenn zum Auffinden und zum Studium von Permeabilitätsänderungen eine größere Zahl von Versuchen anzustellen ist, bei denen es nur darauf ankommt, den einzelnen Wert auf höchstens zwei signifikante Ziffern zu bestimmen, da eben nur die Größenordnung der Permeation gesucht wird. Gerade Permeabilitätsänderungen sind nur dann als gesichert zu betrachten, wenn sie entweder stets gleichsinnig fallen oder wenn sie im Durchschnitt so beträchtlich sind, daß sie über die vielfach hohe Streuung der Vergleichswerte hinausreichen. Für solche Untersuchungen wurde in manchen Fällen die plasmometrische Bestimmung mit der näherungsweisen Berechnung von Δ G abgeschlossen, oder es wurden überhaupt nur die Deplasmolysezeiten als Maß der Permeabilität miteinander verglichen. Das erste Verfahren hat die Mühe der experimentellen Arbeit umsonst aufgewendet, denn der Wert Δ G ist, wiewohl zu Vergleichszwecken gut brauchbar, von der tatsächlichen Permeabilität weit entfernt, das zweite Verfahren aber könnte mit einer geringen Mehrarbeit einen Wert für die Permeationskonstante P′ liefern.

In der vorliegenden Studie soll versucht werden, durch Angabe von Zahlenmaterial das tief eingewurzelte Mißtrauen aller Osmotiker gegen die rechnerische Auswertung der Deplasmolysezeit zu überwinden. Damit wird kein neues Verfahren in Vorschlag gebracht; zuletzt hat Höfler (1943, S. 76) einzelne, anders nicht bestimmbare Permeationswerte für Diatomeen „in erster Annäherung“ auf die angegebene Weise festgestellt. Es soll weiters ein Partialverfahren vorgeschlagen werden, welches ebenfalls die Deplasmolysezeit benützt und das geeignet erscheint, die Permeabilitätsbestimmungen für vielerlei Zwecke noch mehr zu vereinfachen.

Anlaß zur Prüfung der Verwendbarkeit von aus der Deplasmolysezeit berechneten Permeabilitätswerten ergab sich, als ich eine vor langer Zeit begonnene Untersuchung (Hofmeister, 1938) über den Einfluß der Vitalfärbung auf die Permeabilität fortsetzen wollte und mich dabei durch die besonderen Verhältnisse der Nachkriegszeit zu äußerster Zeitökonomie genötigt sah. Für meinen Zweck hätte allerdings zunächst auch der rohe Vergleich der Deplasmolysezeit genügt (Hofmeister l. c., S. 409). Ich entnahm aus alten Protokollen plasmometrischer Versuche Angaben, die eine Berechnung auch nach der Deplasmolysezeit erlaubten, und fand, daß bei normalem Versuchsablauf (d. h. gleich-

mäßiger Permeation) das Ergebnis der groben Methode dem Mittelwert mehrerer Intervalle der plasmometrischen Bestimmung etwa entsprach. Einige eigens angestellte Versuche bestätigten diese Tatsache und erfüllten die Erwartung, daß die Auswertung nach der Deplasmolysezeit nur einen Bruchteil der Zeit beansprucht, welche auf den plasmometrischen Versuch verwendet werden müßte.

Im folgenden wird zunächst die Permeabilitätsbestimmung nach der Deplasmolysezeit geschildert, wobei von Höflers Vorgang (1943, S. 76) ausgegangen wird. Sodann wird an einem Beispiel die nach meinem Dafürhalten richtigste und in dieser Studie durchgehend verwendete Auswertung eines plasmometrischen Versuches in knapper Form mitgeteilt und am gleichen Versuch die Bestimmung nach der Deplasmolysezeit demonstriert. Darauf folgt die vergleichende Zusammenstellung von jeweils aus denselben Versuchen berechneten Werten beider Verfahren und ein Hinweis auf die Möglichkeit, Partialversuche in noch einfacherer Art anzustellen.

II. Permeabilitätsbestimmung nach der Deplasmolysezeit.

Wir betrachten zunächst die Auswertung eines Deplasmolysezeitversuches, wie sie von Höfler (1943) mitgeteilt wurde. Gesucht ist P′, die pro Stunde aufgenommene Lösungsmenge in mol, bezogen auf das treibende Konzentrationsgefälle. Gleichung und Symbole sind von der plasmometrischen Methode her vertraut:

$$P' = \frac{M}{C - c}$$

M = die pro Stunde aufgenommene Menge der permeierenden Substanz in mol,
C = die Konzentration des Plasmolytikums in der Außenlösung,
c = die jeweilige Konzentration der eingedrungenen Substanz im Zellsaft.

O, der osmotische Wert des Objektes (Pinnularia) war 0,15 mol Rohrzucker. In Zuckerlösung von der Konzentration C = 0,30 mol ging die Plasmolyse in 110 Minuten nach dem Einlegen zurück (Deplasmolysezeit). In dieser Zeit muß die Differenz C — O = = 0,30 — 0,15 = 0,15 mol Rohrzucker eingedrungen sein, das ist pro Stunde die Menge M = 0,082 mol. Im Zellsaft stieg daher die Konzentration c seit Versuchsbeginn von Null bis 0,15 mol; (C — c)

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

war anfangs 0,30, bei der Deplasmolyse 0,15 und in der halben Zeit etwa 0,225. Wir finden also:

$$P' = \frac{M}{C - c} = \frac{0{,}082}{0{,}225} = 0{,}36 \text{ mol Rohrzucker.}$$

Wir formen die Gleichung um wie folgt und erreichen dadurch ihre Verwendbarkeit für Serienversuche:

P'_d ... P'—Wert aus einem Deplasmolysezeitversuch gewonnen,
T ... Deplasmolysezeit in Minuten,

$$M = \frac{(C - O)\ 60}{T},$$

$$c = \frac{C - O}{2},$$

$$P'_d = \frac{M}{C - c} = \frac{\frac{(C - O)\ 60}{T}}{C - \frac{(C - O)}{2}} = \frac{120\ (C - O)}{T\ (C + O)}.$$

Demnach ist lediglich der osmotische Wert des Objektes in Zuckerlösung zu bestimmen und an streng vergleichbarem Material die Deplasmolysezeit in einem hypertonischen Diosmotikum der Konzentration C festzustellen. Die Rechenarbeit vereinfacht sich für Serienversuche dadurch, daß wir für einheitliches Material den Ausdruck $\frac{120\ (C - O)}{(C + O)}$ nur einmal berechnen und dann nur durch T zu dividieren haben[2].

In meinen Versuchen hat es sich bewährt, den Zeitpunkt der Deplasmolyse schon als gegeben anzunehmen, wenn die Protoplaste nahezu, aber nicht völlig rückgedehnt sind[3] und dieser Zustand in der überwiegenden Mehrzahl der Zellen eingetreten ist; 2 bis 3 Zellreihen des Schnittrandes werden dabei nicht berücksichtigt (Wundhemmung, siehe Höfler 1934, S. 224). Der Zeitpunkt der Deplas-

[2] Nicht berücksichtigt sind die anomalen osmotischen Koeffizienten (Fitting 1920), die nicht nur für Glyzerin und Harnstoff, sondern allgemein für rasch permeierende Plasmolytika gefunden werden. Wenn sie auf andere Ursachen zurückzuführen sein sollten, als auf die Permeation, so sind diese Ursachen jedenfalls nicht genügend bekannt. Probeweise Einführung dieser Koeffizienten in die Formel ergab zumeist verstärkte Abweichung von den plasmometrischen Resultaten.

[3] Ein letzter kleiner Volumanteil der Zelle wird oftmals durch längere Zeit nicht ausgefüllt; mechanische Widerstände des Plasmas sind die Ursache dieser Verzögerung der Deplasmolyse. Daher nehme ich z. B. bei prismatischen Zellen Deplasmolyse an, wenn $^2/_3$ bis $^3/_4$ der Querwände mit dem Protoplasten in Berührung sind.

molyse kann durch Beobachtung jeweils nur eines Schnittes oder besser durch aufeinanderfolgende Beurteilung mehrerer gleichzeitig eingelegter bzw. durch gleichzeitige Beobachtung in kurzen Intervallen nacheinander eingelegter Schnitte festgestellt werden.

III. Die Auswertung plasmometrischer Versuche.

Da ein Vergleich von Deplasmolysewerten mit Resultaten der plasmometrischen Bestimmung durchgeführt werden soll, muß zunächst präzisiert werden, welche Form der plasmometrischen Wertung gemeint ist.

Die plasmometrische Methode ist viel zu bekannt, als daß sie nochmals referiert werden müßte; ich verweise nur auf Höfler (1918, 1934), Hofmeister (1935) und Strugger (1935).

Als Maß der Permeabilität werden üblicherweise verwendet ΔG und P'.[4]

ΔG ist die Änderung des Plasmolysegrades pro Stunde. Es besteht die Beziehung $\Delta G = \frac{M}{C}$, wobei M gleich der mittleren Stoffaufnahme des Protoplasten pro Stunde ist. ΔG kann nur in erster Annäherung als Permeabilitätsmaß gelten. Es wird mit Vorliebe verwendet, wo es auf die absolute Höhe der Permeabilität nicht ankommt, weil dazu wenig Rechenarbeit notwendig ist; P' ist die Konstante für die Permeabilität des Protoplasten; es besteht das Verhältnis: $P' = \frac{M}{C - c}$.

Die jeweilige Konzentration des Diosmotikums im Zellsaft (c) wird nach Höfler (1934, S. 226) durch lineare Extrapolation aus der Stoffaufnahme während des zu wertenden Intervalls (und zwar aus der Zeit vom Einlegen bis zu dessen Mitte für das erste Intervall, von Mitte zu Mitte für die weiteren) berechnet. Da sich, wie Ashida geltend machte, die Angabe von c in mol auf den Innenraum der entspannten Zelle und nicht auf den jeweilig von dem sich ausdehnenden Protoplasten eingenommenen Raum bezieht (c in Wirklichkeit also größer ist), muß c noch durch g, den mittleren Plasmolysegrad des gewerteten Intervalls, dividiert werden („Korrektur nach Ashida", Hofmeister, 1938). Demnach ist die Permeationskonstante etwa für das Intervall zwischen den ersten zwei Messungen wie folgt zu berechnen:

$$P' = \frac{M}{C - \frac{c}{g}}. \qquad g = \frac{G_1 + G_2}{2}.$$

Bei gleichbleibender Permeation müßte streng genommen jedes Messungsintervall eines Versuches für P' den gleichen Wert geben, während die

[4] P, die Konstante für die Permeabilität des Protoplasmas, wird durch Multiplikation von P' mit $\frac{v}{o}$ (v = Volumen des Protoplasten, o = Protoplastenoberfläche) berechnet, was in gleicher Weise auch für die Deplasmolysezeitversuche gilt.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

ΔG-Werte von einem Intervall zum anderen niedriger werden (wie es in unserem Beispiel auf S. 89 tatsächlich der Fall ist). Im Falle gleichbleibender Permeation kann c für verschiedene Messungsintervalle jeweils unter Zugrundelegung der Permeation des betreffenden Intervalls ermittelt werden (Vorgang 1, siehe S. 89).

Bei ungleichmäßiger Permeation dagegen, etwa bei Beschleunigung des Durchtrittes, wie sie in Methylharnstoff, Sulfoharnstoff. Äthylenglykol und anderen Verbindungen vorkommen kann (Höfler, 1934; Hofmeister, 1935), wird der Wertung späterer Intervalle besser der c-Wert aus früheren zugrunde gelegt und um so viel vermehrt, als dem Eintritt während der halben Dauer des zu wertenden Intervalls entspricht. Dabei muß die inzwischen erfolgte Vergrößerung des Protoplasten in Rechnung gestellt werden, etwa indem der Wert des früheren Intervalls mit dem Bruch $\frac{g_1}{g_2}$ multipliziert wird (Vorgang 2, siehe S. 89). In unserem Beispiel werden die Ergebnisse beider Berechnungen verglichen; sie liegen einander nahe, da gleichmäßige Permeation vorliegt. Bei ungleichmäßiger Permeation würden die Resultate späterer Intervalle je nach der Berechnungsweise verschieden ausfallen, wobei die nach dem zweiten Vorgang gerechneten die richtigeren wären.

Leider hat die „Korrektur nach Ashida", die nur unauffällig im Methodikabschnitt einiger Publikationen (Hofmeister, 1938; Kreuz, 1941; Rottenburg, 1943) mitgeteilt wurde, sich nicht in weiteren Kreisen eingeführt. Darum soll hier, wo diese Berechnungsweise und die Deplasmolysebestimmung mit ihren einander naheliegenden Ergebnissen gegenseitig ihre Berechtigung demonstrieren, nochmals nachdrücklich auf die Auswertung plasmometrischer Versuche unter Verwendung der „Ashida-Korrektur" hingewiesen werden.

In Fällen, in denen sich die Autoren auf die Ermittlung von ΔG beschränken, wäre meines Erachtens die Anwendung der Deplasmolysezeitbestimmung rationeller, da ihre Resultate dem wahren Wert P′ näher liegen als ΔG; man muß jedoch beachten, daß damit Durchschnittswerte des Gesamtablaufes der Permeation ermittelt werden.

IV. Auswertung eines Versuches nach der plasmometrischen Methode und nach der Deplasmolysezeit.

Plasmometrischer Versuch.

Vers.-Nr. 46/139. 16. 7. 1946. Solanum tuberosum, Blattstielepidermis. — Ein Schnitt nach Wässerung von 35 Minuten in C = 2,0 mol Harnstoff (gelöst in Brunnenwasser) eingelegt: 12 Uhr 00 Min. Die Protoplaste plasmolysieren rasch, nach 4½ Min. allgemeine Rundung. — 1. Messung: 12 Uhr 6¼—7 Min. 2. Messung: 12 Uhr 7½—8½ Min. 3. Messung: 12 Uhr 9¼ bis 10½ Min. 4. Messung: 12 Uhr 11¼—12½ Min. 5. Messung: 12 Uhr 23¼ bis 24½ Min. Deplasmolyse um 12 Uhr 43 Min.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

	Zelle	G_1	G_2-G_1	G_3-G_2	G_4-G_3	G_5-G_4	
	1	0,405	0,023	0,040	0,030	0,172	
	2	0,422	0,021	0,038	0,038	0,209	
	3	0,416	0,027	0,033	0,037	0,165	
Mittel:			0,024	0,037	0,035	0,182	
Stundenwerte ΔG			1,15	1,18	1,05	0,91	
c berechnet nach „Vorgang 1“			0,660	0,770	0,775	0,903	
und daraus:							Mittel:
P′			1,72	1,92	1,72	1,66	**1,76**
c berechnet nach „Vorgang 2“				0,756	0,836	1,037	
und daraus;							Mittel:
P′				1,80	1,81	1,89	**1,83**

Auswertung nach der Deplasmolysezeit.

C = 2,0 mol Harnstoff. Deplasmolysezeit: T = 43 Minuten.
O = 0,32 mol Laevulose.

$$P'_d = \frac{120\ (C-O)}{T\ \ (C+O)} = \frac{120\,.\,1{,}68}{43\,.\,2{,}32} = \mathbf{2{,}0.}$$

Die nach den beiden Methoden gefundenen Werte liegen mit 1,8 und 2,0 nicht weit auseinander. Die folgende Tabelle zeigt, daß die Übereinstimmung der beiden Verfahren auch eine engere sein kann. Bezüglich der Objekte Ranunculus und Zygnema entstand die vorliegende Zusammenstellung derart, daß vorhandene Protokolle aus den Jahren 1936 und 1932 nach solchen Versuchen durchgesehen wurden, die eine verläßliche Angabe des Deplasmolysezeitpunktes neben den plasmometrischen Messungen enthielten; die Auswahl der Versuche ist also eine rein zufällige. Die Resultate von Zygnema und Ranunculus wurden 1935 bzw. 1938 publiziert, jedoch damals ohne die Korrektur nach Ashida gerechnet.

V. Vergleich der Ergebnisse beider Methoden.

Die Tabelle enthält nebeneinander die Werte P′ und P'_d und außerdem zur Erleichterung des Vergleiches P'_d in Prozenten von P′ ausgedrückt. Die Werte der beiden Verfahren weichen natürlich voneinander ab; hält man aber dagegen, daß in einer Reihe streng vergleichbarer und nach derselben Methode ausgeführter Perme-

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

abilitätsbestimmungen Abweichungen vom arithmetischen Mittel im Betrage von ± 20% durchaus normal sind und daß die Deplasmolysezeitbestimmung auch den Zeitraum vom Einlegen bis zur Rundung der Protoplaste mit erfaßt, welcher der plasmometrischen Messung nicht zugänglich ist, so muß man die Übereinstimmung als überraschend gut bezeichnen.

Tabelle 1.

Vergleich der Ergebnisse beider Methoden.

Objekt	Plasmolytikum		P'	P'_d	P'_d in % von P'	Vers.-Nr.
Ranunculus repens, Subepidermis der Blattscheiden	1,2 mol	Harnstoff	0,74	0,64	87	36/78
	1,2		1,1	1,2	109	36/71
	1,2	Methylharnstoff	2,1	2,1	100	36/64
	2,0	Glykol	11,9	13,2	111	36/12
	2,0		14,9	16,3	109	36/65
	1,0	Glyzerin	1,0	0,96	96	36/79
	0,8		0,87	0,85	98	36/3602
	1,2		0,67	0,62	93	36/3607
	1,2		0,51	0,51	100	36/3610
Zygnema sp.	0,8	Harnstoff	0,22	0,23	105	Z 10
	0,7	Malonamid	0,052	0,042	81	Z 74
	0,6	Glyzerin	0,44	0,46	105	Z 60
	1,0	Glykol	12,4	14,0	113	Z 15
	1,0		10,7	13,3	124	Z 16
	1,0		14,9	17,3	116	Z 18
Solanum tuberosum, Material II, Blattstielepidermis	1,0	Harnstoff	1,3	1,2	92	46/141
	1,25 „		0,88	1,2	136	41/143
	1,5		1,4	1,6	114	46/140
	2,0		1,76	2,0	115	46/139
Solanum tuberosum, Material I, Blattstielepidermis	1,25 „		8,8	8,7	99	46/133
	1,25		10,7	10,3	96	46/135
	1,5		7,9	12,7	161	46/131
	1,5		8,5	12,8	150	46/132
	1,5		10,2	10,9	107	46/132a

Die Übereinstimmung der Werte ist für Ranunculus repens besser als für das empfindlichere Objekt Zygnema. Für das Plasmolytikum Glykol ist Steigerung der Permeabilität während des Versuchsablaufes nachgewiesen, dementsprechend liegen die betreffenden P'_d-Werte durchgehend höher als P'. Bei dem sehr hochpermeablen Kartoffelmaterial I ist die Übereinstimmung für die niedrigere Harnstoffkonzentration von 1,25 mol besser als für die nicht ganz unschädliche von 1,5 mol.

In bestimmten Ausnahmefällen können P' und P'_d weit auseinanderfallen. Es handelt sich dabei um Werte einzelner Zellen, die im plasmometrischen Versuch durch unregelmäßige („ruckweise") Rückdehnung auffallen und sich dadurch von anderen, gleichzeitig beobachteten Zellen unterscheiden. Der P'-Wert solcher Zellen kann, besonders wenn die Korrektur nach Ashida verwendet wird, um viel (bis zehnfach) zu hoch ausfallen, da die Extrapolation für c in diesem Falle einen viel zu hohen Wert vortäuscht. Wenn mehrere Zellen gemessen wurden, kann die betreffende leicht ausgeschieden werden; wenn aber, wie bei sehr rasch permeierenden Verbindungen, nur eine Zelle zur Messung kommt, verrät nur der Wert von c die Fehlerquelle, da er in diesem Fall C — O nahekommt oder diesen Wert übersteigt; es versteht sich jedoch, daß c erst im Augenblick der Deplasmolyse C — O erreichen kann. Der Deplasmolysezeitversuch bleibt von den Fehlern der ruckweisen Rückdehnung unberührt, da vor oder nach dieser gewöhnlich ein Intervall langsamer Ausdehnung liegt; daher ist er geeignet, Ergebnisse plasmometrischer Versuche zu sichern, wenn sie an einer geringen Zahl von Zellen ausgeführt werden müssen.

Abgesehen vom Zeitgewinn und von der Möglichkeit, zahlreiche Zellen zu beobachten, liegt der große Vorteil der Deplasmolysezeitbestimmung darin, daß auch mit unregelmäßig geformten Zellen gearbeitet werden kann, die der plasmometrischen Methode nicht zugänglich sind.

Es darf noch erwähnt werden, daß die Permeabilitätsbestimmung nach der Deplasmolysezeit inzwischen in einer Versuchsreihe ihre Brauchbarkeit erwiesen hat (Hofmeister, 1949).

VI. Partialverfahren der Deplasmolysezeitbestimmung.

Im folgenden soll die Anregung zu einem Partialverfahren der Permeabilitätsbestimmung gegeben werden, welches ebenfalls auf der Deplasmolysezeitbestimmung beruht; es wurde in einigen orientierenden Versuchen mit zufriedenstellendem Erfolg angewendet und wird seine Verwendbarkeit weiterhin noch zu erweisen haben.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Partialverfahren der Permeabilitätsbestimmung werden seit Overton vielfach verwendet. Ihr Wesen besteht darin, daß Substanzen, welche in hypertonischer Konzentration nicht vertragen werden oder nicht bis zu einer solchen löslich sind, neben der plasmolysierenden Lösung eines unschädlichen und nicht (fast nicht) permeierenden Stoffes (Zucker) in geringerer Konzentration geboten werden. Es handelt sich also zunächst um Fälle, in denen eine Permeabilitätsbestimmung auf andere Art nicht möglich ist. Die Bedenken, welche der Verwendung eines Zuckerzusatzes entgegenstehen, da dieser Permeabilitätshemmung bewirken kann, dürfen nicht übersehen werden (Hofmeister, 1935; Schmidt, 1936; Kreuz, 1941). Doch fällt bei dem unten zu schildernden Vorgang die Vorplasmolyse in der Zuckerlösung weg, welche bei längerer Dauer die Hauptursache der Hemmung sein dürfte.

Der osmotische Wert O eines Objektes sei 1,0 mol Glukose. Die verwendete Lösung habe die Konzentration C + D = 1,0 mol Glukose + 0,5 mol Harnstoff (C = nicht eindringendes Plasmolytikum, D = permeierendes Diosmotikum). In diesem Falle wird Rückgang der Plasmolyse, welche in C nicht, wohl aber in C + D eintritt, erst erfolgen, wenn D (0,5 mol Harnstoff) zur Gänze endosmiert ist. Für die Mitte der Deplasmolysezeit ist das treibende Konzentrationsgefälle mit $\frac{D}{2}$ anzunehmen. Wenn wir die aus einem Deplasmolysezeit-Partialversuch erhaltene Konstante mit P'_{pd} bezeichnen, ist

$$P_{pd} = \frac{M}{C - c} = \frac{D \cdot 60}{T \cdot \frac{D}{2}} = \frac{120}{T}.^{5}$$

Es hat sich bewährt, die Zuckerlösung als „osmotische Unterlage“ um 5 bis 10% niedriger als den osmotischen Wert der Zellen anzusetzen[6]. Dadurch wird die auf S. 86 dargestellte Verzögerung durch mechanische Widerstände des Plasmas ausgeschaltet. Vorwässerung ist im Interesse leichterer Plasmaablösung zu empfehlen, Vorplasmolyse ist nicht anzuwenden, wird aber vielleicht nicht zu umgehen sein, wenn die Konzentration D sehr gering ist und sich Plasmolyse in C + D sonst nicht erreichen läßt. Zur (kurzdauernden) Vorplasmolyse käme dann z. B. Zucker im Betrage von C + D mol in Betracht.

Über Gleichung und Symbole siehe S. 85 f.

[6] Elo (1939) macht ebenfalls Partialversuche mit schwach hypotonischer Zuckerlösung; es handelt sich dort um plasmometrische Versuche.

Einige orientierende Versuche wurden am 12. August 1946 mit Zellen der roten Stengelepidermis von Mentha rubra Huds. durchgeführt. Die Epidermisstreifen wurden unter Vermeidung stärkerer Verbiegung abgezogen und die Versuche Nr. 170 bis 179 mit Teilen von einem, Nr. 180 bis 184 mit Teilen eines zweiten Streifens bestritten. Innerhalb dieser Gruppen sind die Resultate streng vergleichbar.

O = 0,737 mol Laevulose. Wässerung für die Versuche 170 bis 173 in dest. Wasser 5 bis 15 Minuten.

Vers.-Nr.	C	D	T	P'_d	P'_{pd}
170 (Kontrolle)	2,0 mol Harnstoff	—	17 Min.	3,3	—
171 (Kontrolle)	2,0	—	19	2,9	—
172	0,74 Laevulose	+ 1,0 mol Harnstoff	41	—	$\frac{120}{41} = 2{,}9$
173	0,74	+ 0,5	33½ „	—	3,6

Der weitere Verlauf des Versuches brachte eine überraschende Nebenbeobachtung. Die Bestimmungen wurden nach längerer Wässerung wiederholt und ergaben Anstieg der Harnstoffpermeabilität nach längerer Wässerung. Nach 6½stündiger Wässerung wurde noch ein Kontrollversuch in 2,0 mol Harnstoff gemacht, der mit den P'_{pd}-Werten Übereinstimmung ergab. Die weiteren Versuche wurden paarweise mit D = 0,45 bzw. 0,90 Harnstoff angestellt, um auf etwaige Konzentrationseinflüsse zu prüfen; wie theoretisch zu erwarten, fielen die Werte der Versuchspaare nahezu gleich aus — ein Einfluß der Konzentration von D ergab sich also nicht.

Vers.-Nr.	Dauer der Wässerung	C	D	T	P'_d	P'_{pd}
178	5h 30 Min.	0,67 mol Laevulose	+ 0,45 mol Harnstoff	26 Min.	—	4,6
179	5h 30	0,67	+ 0,9	26	—	4,6
180	6h 10	0,67	+ 0,45	21½ „	—	5,6
181	6h 10	0,67	+ 0,9	21½ „	—	5,6
182[7]	6h 30	2,0 Harnstoff	—	5	11,6	—
183	6h 30	0,67 Laevulose	+ 0,9	11	—	10,9
184	6h 30	0,67	+ 0,45	12	—	10,0

Es dürfte sich lohnen, dieses einfache Verfahren weiterhin zu erproben.

[7] Kontrollversuch an 2 Schnitten.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

VII. Zusammenfassung.

Es wird angeregt, die Permeabilität in jenen Fällen aus der Deplasmolysezeit zu ermitteln, in denen eine restlos genaue Bestimmung nicht möglich oder nicht nötig ist. An Beispielen wird gezeigt, daß die solcherart mit einem Minimum an Arbeits- und Zeitaufwand gewonnenen Ergebnisse mit plasmometrisch gefundenen Resultaten gut übereinstimmen; die nach beiden Verfahren errechneten Konstanten sind grundsätzlich miteinander vergleichbar, da die Ausgangsgleichung dieselbe ist. Der Wert aus der Deplasmolysezeit ist mit dem Durchschnitt der Permeation während der gesamten Rückdehnung und dem durchschnittlichen Verhalten der zahlreichen Zellen des ganzen Schnittes zu vergleichen.

Die erwähnte Übereinstimmung bezieht sich auf plasmometrisch gewonnene Werte P′, welche unter Anbringung der „Korrektur nach Ashida" gerechnet sind. Es wird angeregt, diesen Rechenvorgang mehr als bisher zu benützen.

Ferner wird eine Partialmethode der Permeabilitätsbestimmung aus der Deplasmolysezeit vorgeschlagen, welche sehr einfach zu handhaben, völlig durchsichtig und nur mit minimaler Rechenarbeit behaftet ist.

Methodische Vorteile der geschilderten Verfahren sind: Unabhängigkeit von der Zellform, Wertung des durchschnittlichen Verhaltens zahlreicher Zellen, Ersparnis an Beobachtungszeit und Rechenarbeit, im Partialverfahren außerdem Beschränkung auf die Deplasmolysezeit als einzige in die Auswertung eingehende Größe.

Vielleicht ist damit ein Weg gewiesen, Permeabilitätsbestimmungen auf noch viel breiterer Basis als bisher durchzuführen.

Literatur.

Biebl, R., 1948, Permeabilitätsversuche an der Kartoffelpflanze. Öst. Bot. Zeitschr. **95**, 129.

Elo, I. E., 1939, Zur Kenntnis der Permeabilitätseigenschaften von Hippuris vulgaris L. Protoplasma **32**, 423.

Fitting, H., 1920. Untersuchungen über die Aufnahme und über anomale osmotische Koeffizienten von Glycerin und Harnstoff. Jahrb. f. wiss. Bot. **59**, 1.

Höfler, K., 1918, Permeabilitätsbestimmung nach der plasmometrischen Methode. Ber. d. deutsch. bot. Ges., **36**, 414.

— 1934, Permeabilitätsstudien an Stengelzellen von Majanthemum bifolium. (Zur Kenntnis spezifischer Permeabilitätsreihen I.) Sitzungsber. Akad. d. Wiss. Wien, math.-nat. Kl., I. Abt. **143**, 213.

— 1943, Über Fettspeicherung und Zuckerpermeabilität einiger Diatomeen und über Diagonal-Symmetrie im Diatomeenprotoplasten. Protoplasma **38**, 71.

©Akademie d. Wissenschaften Wien; download unter www.biologiezentrum.at

Hofmeister, L., 1935, Vergleichende Untersuchungen über spezifische Permeabilitätsreihen. Bibliotheca Botanica **113**.
— 1938 a, Verschiedene Permeabilitätsreihen bei einer und derselben Zellsorte von Ranunculus repens. Jahrb. f. wiss. Bot. **86**, 401.
— 1938 b, Studien über die Permeabilität vital gefärbter Pflanzenzellen. I. Versuche mit Neutralrot und Methylenblau. Zeitschr. f. wiss. Mikr. **55**, 393.
— 1949, Vitalfärbungsstudien mit Chrysoidin. (Über Permeabilität und Quellung vitalgefärbten Plasmas.) Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien, math.-nat. Kl., I. Abt. **157**, 55.
Kreuz, J., 1941, Der Einfluß von Calzium- und Kaliumsalzen auf die Permeabilität des Protoplasmas für Harnstoff und Glyzerin. Öst. Bot. Zeitschr. **90**, 1.
Rottenburg, W., 1943, Die Plasmapermeabilität für Harnstoff und Glyzerin in ihrer Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration. Flora **37**, 230.
Schmidt, H., 1939, Plasmazustand und Wasserhaushalt bei Lamium maculatum. Protoplasma **33**, 25.
Strugger, S., 1935, Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanzen. Borntraeger, Berlin.